

## 조기 위암에서 림프절 전이와 p53, Bcl-2 단백질 발현 및 Ki-67 표지지수의 상관관계

최준혁 · 심영란

영남대학교 의과대학 병리학교실

접 수 : 2001년 10월 16일  
게재승인 : 2002년 1월 25일

책임저자 : 최 준 혁  
우 705-717 대구광역시 남구 대명동 317-1  
영남대학교 의과대학 병리학교실  
전화: 053-620-3335, 3330  
Fax: 053-656-1429  
E-mail: jhcap@medical.yeungnam.ac.kr

### Correlation Between Expression of p53, Bcl-2 Protein and Ki-67 Labelling Index and Lymph Node Metastasis in Early Gastric Cancer

Joon Hyuk Choi and Young Ran Shim

Department of Pathology, Yeungnam University College of Medicine, Daegu, Korea

**Background :** The purpose of this study was to investigate the difference of clinipathological variables and p53, bcl-2, and Ki-67 labelling index between early gastric cancer with and without lymph node metastasis. **Methods :** The authors analyzed thirty patients who had early gastric cancer confined to submucosa (sm cancer) without lymph node metastasis and thirty patients who had sm cancer with lymph node metastasis. The expression of p53 protein, bcl-2 protein and Ki-67 labelling index were evaluated by immunohistochemistry. **Results :** No significant correlation was found between lymph node metastasis and age, sex, tumor size, Lauren classification, histologic grade, and venous invasion. But lymphatic invasion was significantly correlated to lymph node metastasis ( $p < 0.01$ ). The p53 positive rate was 73.3% (22/30) and 66.7% (20/30) in sm cancer with and without lymph node metastasis, respectively. The bcl-2 positive rate was 40.0% (12/30) and 30.0% (9/30) in sm cancer with and without lymph node metastasis, respectively. The Ki-67 labelling index (%) was  $63.9 \pm 15.3$  and  $61.4 \pm 12.8$  in sm cancer with and without lymph node metastasis, respectively. The lymph node metastasis was not significantly correlated to expression of p53 protein, bcl-2 protein or Ki-67 labelling index. **Conclusions :** Expression of p53, bcl-2 protein and proliferative activity of sm cancer may not influence lymph node metastasis. Lymphatic invasion is a significant predictor of lymph node metastasis.

**Key Words :** Stomach Neoplasms-Immunohistochemistry-Neoplasm Metastasis

위암은 우리 나라에서 발생하는 암 가운데 가장 흔한 암이며 이 중 조기 위암은 30% 정도이다.<sup>1,2</sup> 조기 위암은 정의상 림프절의 전이 유무와는 관계없이 암종이 점막층 혹은 점막하층에 국한되어 있는 경우를 말한다. 최근 일반인의 높은 관심과 정기 검진 및 위내시경 검사의 증가에 의해 조기 위암의 발견율이 증가하고 있는 추세이다.<sup>3</sup> 조기 위암은 림프절 전이가 없는 경우 5년 생존율이 90% 이상으로 그 예후가 매우 좋지만, 림프절 전이가 있는 조기 위암 환자의 5년 생존율은 65-77%로 낮다고 알려져 있다.<sup>4,5</sup> 그러므로 조기 위암 환자에서 암 전이와 연관된 인자를 규명하는 것은 환자의 치료와 예후에 중요하다. 조기 위암에서 림프절 전이의 빈도는 Ohta 등<sup>6</sup>의 보고에 의하면 점막층 암은 3.4%, 점막하층암은 21.7%로 종양의 위벽 침윤 정도가 림

프절 전이의 중요한 인자로 알려져 있다. 그러나 조기 위암에서 림프절 전이에 영향을 미치는 다른 인자들에 대한 연구는 충분히 되어 있지 않다.

최근 종양의 성장과 전이는 세포자멸사와 종양 세포의 세포증식에 의해 결정될 수 있다고 보고되고 있어 이에 대한 관심이 높다.<sup>7-9</sup> 세포자멸사와 관련된 유전자로 p53 유전자와 bcl-2 유전자가 있다. p53 유전자는 17번 염색체의 단완에 존재하는 종양억제유전자로 인체의 여러 암종의 발생과 관련이 있으며 위암에서의 p53 단백질 발현은 35-64%로 알려져 있다.<sup>10,11</sup> Martin 등<sup>12</sup>과 Kakeji 등<sup>13</sup>은 위암에서 p53 유전자의 돌연변이가 있는 경우 림프절 전이가 높으며 예후가 나쁘다고 보고하였으나, Kanai 등<sup>14</sup>은 조기 위암에서 p53 단백질 발현과 림프절 전이와는 관련성

이 없다고 보고하여 학자들마다 차이가 있다. *Bcl-2* 유전자는 염색체 18번에 위치하는 원종양유전자이다. 이 유전자는 세포자멸사를 억제함으로써 세포의 수명을 연장시켜 종양억제유전자 혹은 세포증식과 연관된 유전자들의 유전적 결함의 기회를 증가하게 하여 암을 유발한다.<sup>15,16</sup> 위암에서 *bcl-2* 단백질 발현에 대한 연구에 의하면 림프절 전이의 유무와 *bcl-2* 단백질 발현 사이에 상관 관계가 없었다는 보고가 있지만, 조기 위암에서의 림프절 전이와 *bcl-2* 단백질에 관한 연구는 미흡한 실정이다.<sup>7,11</sup> 종양 세포의 세포증식에 관한 표지자로 흔히 사용되는 Ki-67은 핵단백으로 G0와 초기 G1기를 제외한 모든 세포 주기에 발현된다. Ki-67 표지지수는 인체의 여러 악성 종양에서 생물학적 행동과의 연관성이 연구되고 있다.<sup>17</sup> Kanai 등<sup>14</sup>은 조기 위암에서의 림프절 전이 유무와 Ki-67 표지지수와는 관련이 없었다고 보고하였으나, Kakeji 등<sup>18</sup>은 위암에서 Ki-67 표지지수가 림프절 전이의 중요한 인자라고 하는 상반된 보고를 하였다.

한편 Sasaki 등<sup>19</sup>은 조기 위암에서 p53 단백질 발현이 높을수록 Ki-67 표지지수가 높고 림프절 전이를 잘 한다고 보고하였으며, Kaklamanis 등<sup>8</sup>은 대장암에서 *bcl-2* 단백질 발현이 있고 p53 단백질 발현이 없는 군에서 림프절 전이가 낮았다고 하였다. 따라서 p53 단백질, *bcl-2* 단백질 발현 및 Ki-67 표지지수가 조기 위암의 림프절 전이에 중요할 것으로 생각하나, 이들의 역할에 대하여 확실히 밝혀진 것은 없으며 또한 이들의 상관 관계에 관한 연구는 거의 알려져 있지 않다.

이에 본 연구에서는 조기 위암 중 점막하층암 60예를 대상으로 림프절 전이의 유무에 따른 p53 단백질, *bcl-2* 단백질 발현 및 Ki-67 표지지수를 분석하고 상호 연관성을 알아보고자 하였다.

## 재료와 방법

### 연구 대상

연구 대상은 1995년부터 2000년까지 영남대학교 병원에서 위아전절제술 및 위전절제술로 얻은 조기 위암 가운데 병력과 슬라이드 및 파라핀 포매가 잘 보존된 점막하층암 중 림프절 전이가 있는 30예와 림프절 전이가 없는 30예를 무작위로 선택하였다.

### 방법

각 증례의 임상병리학적 인자들의 분석을 위해 환자의 나이, 성별, 종양의 크기, Lauren 분류와 조직학적 등급 등을 비교하였다. 위벽내 혈관 침범은 림프관 침범과 정맥 침범으로 각각 나누었다. 분명한 근층이 보이는 혈관을 정맥으로 하였고 혈관벽이 얇고 근층이 없는 경우를 림프관으로 구분하였다.

p53 단백질과 *bcl-2* 단백질 및 Ki-67 표지지수의 염색은 파라핀 포매조직에서 얻은 각 증례를 4  $\mu$ m 두께의 절편으로 만들어

100% 크실렌에 방치하여 파라핀을 제거한 후, 100%, 90%, 75% 알콜로 단계적으로 함수화하였다. 3% 과산화수소수에서 30분간 처리하여 내인성 과산화효소의 작용을 억제시킨 뒤 Tris 완충 용액으로 3회 세척하고 citric acid 용액에 슬라이드를 넣고 5분간 극초단파로 처리하였다. 일차 항체로 p53 (DO7 monoclonal antibody, Novocastra Lab., U.K.)은 1:100, *bcl-2* (124 monoclonal antibody, Dako Co., Denmark)는 1:50, Ki-67 (MIB-1 monoclonal antibody, Dako Co., Denmark)은 1:100으로 희석하여 사용하였으며, 37°C에서 2시간 동안 배양한 후 Tris 완충용액으로 3회 세척하였다. 그리고 이차 항체인 Link antibody (Dako Co., Denmark)를 37°C에서 30분간 도포한 다음 Tris 완충용액으로 3회 세척하였다. 그리고 Streptavidin (Zymed Co., U.S.A.)로 30분간 도포한 후 Tris 완충용액으로 3회 세척하고 AEC (3-amino-9-ethylcarbazole)를 10분간 도포하여 발색한 다음 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하였다.

### 결과 판독

p53 단백질은 종양 세포의 핵에 분명히 적갈색으로 염색된 세포 수가 10% 이상인 것을 양성 반응으로 판정하였고, *bcl-2* 단백질은 종양 세포의 세포질에 분명히 적갈색으로 염색된 세포의 수가 10% 이상인 것을 양성 반응으로 판정하였다. 불확실하고 애매하게 염색된 것은 음성으로 판정하였다. Ki-67 표지지수는 종양 내에서 염색된 세포의 밀도가 높은 3-5개의 400배 시야에서 1,000개의 종양 세포 가운데 핵 내에 명확한 적갈색 과립이 보인 세포 수를 세어 백분율을 구하였다.

### 통계학적 분석

통계 처리는 Windows용 한글 SPSS version 10.0 프로그램 (SPSS Korea Inc., 한국)을 이용하여 chi-square test와 Student's t test를 시행하였고 Spearman의 상관관계를 분석하였다. 통계적으로 p 값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 판정하였다.

## 결 과

환자의 연령 분포는 림프절 전이가 없는 점막하층암의 경우 평균 나이가 52.6 $\pm$ 8.9세였고, 림프절 전이가 있는 경우는 평균 나이가 52.9 $\pm$ 10.7세였다 (Table 1). 림프절 전이와 환자의 성비, 종양의 크기, Lauren 분류, 조직학적 등급, 정맥 침범에 따른 유의한 차이는 없었다 ( $p>0.05$ ). 림프관 침범은 림프절 전이가 없는 점막하층암이 3.3% (1/30예)였고 림프절 전이가 있는 점막하층암은 53.3% (16/30예)로 림프절 전이가 있는 점막하

**Table 1.** Clinicopathologic findings of early gastric cancer (submucosa cancer) without lymph node metastasis and with lymph node metastasis

	LN (-) (n=30)	LN (+) (n=30)	p value
Age, years (mean±SD)	52.6±8.9	52.9±10.7	NS
Sex			
male	20 (66.7%)	17 (56.7%)	NS
female	10 (33.3%)	13 (43.3%)	
Size (cm)			
<2	9 (30.0%)	4 (13.3%)	NS
2-5	15 (50.0%)	18 (60.0%)	
>5	6 (20.0%)	8 (26.7%)	
Lauren classification			
intestinal	15 (50.0%)	15 (50.0%)	NS
diffuse	15 (50.0%)	15 (50.0%)	
Histologic grade			
well	7 (23.3%)	4 (13.3%)	NS
moderately	11 (36.7%)	13 (43.3%)	
poorly	12 (40.0%)	13 (43.3%)	
Lymphatic invasion			
negative	29 (96.7%)	14 (46.7%)	p<0.01
positive	1 (3.3%)	16 (53.3%)	
Venous invasion			
Negative	29 (96.7%)	27 (90.0%)	NS
Positive	1 (3.3%)	3 (10.0%)	

LN (-): no lymph node metastasis, LN (+): presence of lymph node metastasis.

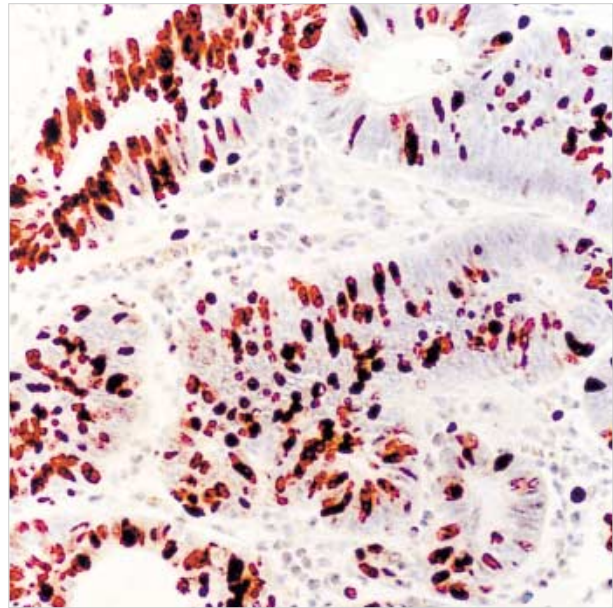
**Table 2.** p53, bcl-2 and Ki-67 immunoreactivity in early gastric cancer (submucosa cancer) without and with lymph node metastasis

	LN (-) (n=30)	LN (+) (n=30)	p value
p53			
negative	10 (33.3%)	8 (26.7%)	NS
positive	20 (66.7%)	22 (73.3%)	
bcl-2			
negative	21 (70.0%)	18 (60.0%)	NS
positive	9 (30.0%)	12 (40.0%)	
Ki-67 (mean±SD)	61.4±12.8	63.9±15.3	NS

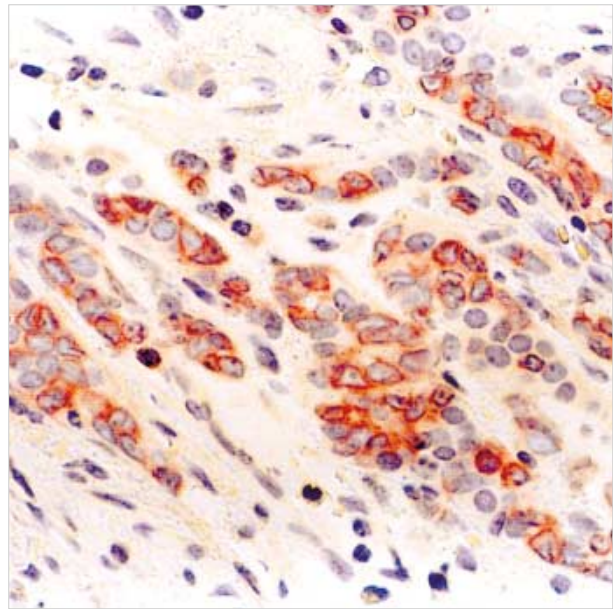
LN (-): no lymph node metastasis, LN (+): presence of lymph node metastasis.

층암이 림프절 전이가 없는 음성군보다 유의하게 높았다 (p<0.01).

p53 단백질 발현은 림프절 전이가 없는 점막하층암은 66.7% (20/30예)가 양성이었다고 림프절 전이가 있는 점막하층암은 73.3% (22/30예)가 양성으로 (Table 2) (Fig. 1), 림프절 전이가 있는 경우 p53 단백질 발현율이 더 높은 경향이었으나 통계적으로 유의하지 않았다 (p>0.05). Bcl-2 단백질 발현은 림프절 전이가 없는 점막하층암은 30.0% (9/30예)가 양성이었다고 림프절 전이가 있는 점막하층암은 40.0% (12/30예)가 양성으로 (Fig. 2), 림프절 전이 유무에 따른 bcl-2 단백질 발현은 통계적으로 유의하지 않았다 (p>0.05). Ki-67 표지지수는 림프절 전이가 없는



**Fig. 1.** The intestinal type of early gastric cancer with lymph node metastasis shows nuclear staining for p53 protein.



**Fig. 2.** The diffuse type of early gastric cancer with lymph node metastasis shows cytoplasmic staining for bcl-2 protein.

점막하층암은 평균 61.4±12.8이었고 림프절 전이가 있는 점막하층암은 63.9±15.3이었으며 (Fig. 3), 림프절 전이가 있는 경우 Ki-67 표지지수가 더 높은 경향이었으나 통계적으로 유의하지 않았다 (p>0.05).

p53 단백질 발현이 음성인 점막하층암(18예)의 Ki-67 표지지수는 55.7±15.7이었고 p53 단백질 발현이 양성인 점막하층암(42예)의 Ki-67 표지지수는 65.6±15.3로, p53 단백질 발현과 Ki-67

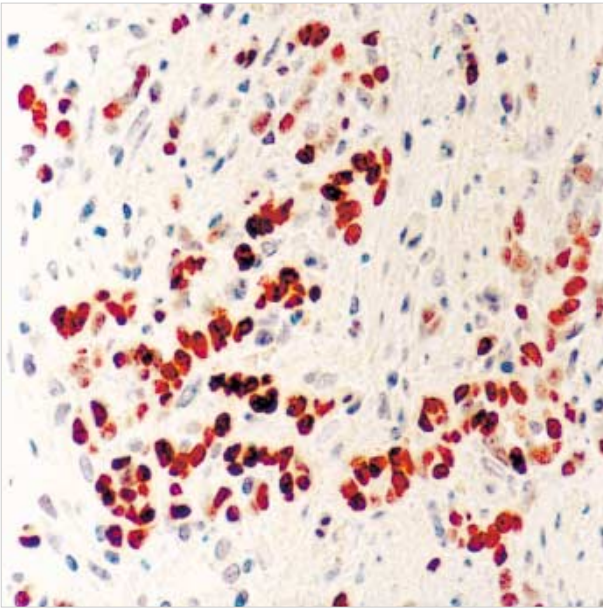


Fig. 3. The diffuse type of early gastric cancer with lymph node metastasis shows nuclear staining for Ki-67.

표지지수 사이에는 양의 상관관계( $\gamma=0.257$ )가 있었고, p53 단백질 발현이 있는 경우 Ki-67 표지지수가 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). p53 단백질과 bcl-2 단백질 발현 및 bcl-2 단백질 발현과 Ki-67 표지지수 사이에는 각각 통계적으로 유의한 상관 관계는 없었다.

## 고 찰

위암은 한국인에서 발생하는 암 중 발생 빈도가 가장 높은 암으로 사망률 또한 높다.<sup>1</sup> 일본의 경우 조기 위암의 빈도는 전체 위암 중 30-50% 정도로 알려져 있다.<sup>20</sup> 이것은 일본에서 조기 위암의 발견율이 높다는 것을 의미한다. 우리나라에서도 최근 정기 검진과 위내시경 검사의 증가로 조기 위암의 발견율이 증가하고 있다.<sup>3</sup> 조기 위암의 5년 생존율은 림프절 전이가 없는 경우 90% 이상으로 매우 높지만, 림프절 전이가 있는 조기 위암 환자의 5년 생존율은 65-77%로 림프절 전이 유무가 조기 위암의 예후에 가장 중요한 인자이다.<sup>4,5</sup> 최근 위 기능능 보존하는 내시경적 위점막 절제술, 복강경하 부분위절제술 등의 치료 방법이 연구되고 있다. 그러므로 조기 위암 환자에서 수술 전에 림프절 전이를 결정할 수 있는 인자에 관한 연구는 환자의 치료와 예후에 매우 중요하다.

조기 위암에서 림프절 전이를 결정하는 임상병리학적 인자들에 관한 연구에 의하면 종양 세포의 위벽 침윤의 정도가 가장 중요한 인자로 알려져 있다.<sup>6,21</sup> Maehara 등<sup>22</sup>은 조기 위암에서 종양의 크기가 클수록, 림프관 침범이 있을 경우에 림프절 전이

가 유의하게 높았고, 종양의 육안적 형태, 나이, 성별, 조직학적 분류 및 종양의 성장 양식과는 유의한 차이는 없었다고 보고하면서 이러한 위험 인자를 가진 환자는 림프절 절제와 수술 후 보조치료를 할 것을 주장하였다. Kodama 등<sup>23</sup>은 조기 위암 중 조직학적으로 고분화형은 림프절 및 간으로의 전이가 높아서 예후가 나쁘다고 보고한 반면에, 김 등<sup>21</sup>은 종양 세포의 분화가 나빠수록 림프절 전이가 높았다는 상반된 보고를 하였다. 본 연구에서는 림프절 전이가 종양의 크기, Lauren 분류, 조직학적 분화도, 정맥 침범과 통계적으로 유의한 차이가 없었으며, 림프관 침범이 통계적으로 유의한 차이가 있었다( $p<0.01$ ). 이러한 결과는 림프관 침범이 림프절 전이와 관련 있는 가장 중요한 인자임을 시사한다. 또한 림프관 침범이 있는 경우 예방적인 림프절 절제술이 필요하리라고 생각한다.

위암의 p53 유전자의 돌연변이에 관한 연구로 Martin 등<sup>12</sup>과 Kakeji 등<sup>13</sup>은 위암에서 p53 유전자의 돌연변이는 림프절 전이를 증가시킨다고 보고하였다. Fonseca 등<sup>24</sup>의 보고에 의하면 조기 위암 환자에서 p53 유전자의 돌연변이가 있는 경우 환자의 예후가 나빠며 p53 유전자의 돌연변이가 종양의 생물학적 행동에 영향을 준다고 주장하였다. 이러한 사실들은 p53 유전자 돌연변이가 위암의 림프절 전이를 증가시키며 생물학적 행동에 영향을 미친다는 것을 시사한다. 그러나 Hurlimann 등<sup>25</sup>은 위암에서 림프절 전이와 p53 유전자의 돌연변이 사이에 유의한 관계가 없다고 보고하여 학자들마다 차이가 있다. 본 연구에서는 p53 단백질 발현은 림프절 전이가 없는 점막하층암은 66.7%가 양성이고 림프절 전이가 있는 점막하층암은 73.3%가 양성으로, 림프절 전이가 있는 경우에 p53 단백질 발현율이 높은 경향이었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 이러한 차이는 p53 유전자의 돌연변이의 검출 방법의 차이, 연구 대상의 차이, 유전 및 지역 인구의 환경적 인자, 판정 기준의 차이 등에 기인한 것으로 생각한다. p53 단백질 발현이 림프절 전이 유무의 예측 인자로서 가지는 유용성은 앞으로 더 연구되어야 할 것이다.

위암에서의 bcl-2 단백질 발현은 34-72%로 보고되고 있다.<sup>11,26</sup> 본 연구에서 bcl-2 단백질 발현은 림프절 전이가 없는 점막하층암은 30.0%가 양성이고 림프절 전이가 있는 점막하층암은 40.0%가 양성으로, 림프절 전이가 있는 경우에 bcl-2 단백질 발현이 증가하는 경향이었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. Koshida 등<sup>7</sup>과 Lauwers 등<sup>26</sup>의 보고에 의하면 위암에서 bcl-2 단백질 발현과 림프절 전이 유무와는 상관관계가 없었다. 이는 본 연구의 결과와 일치하며 bcl-2 단백질이 림프절의 전이에 중요한 역할을 하지 않을 것으로 생각한다. 한편 Berardo 등<sup>27</sup>은 유방암에서 전이된 림프절의 수가 적을수록 bcl-2 단백질 발현율은 높았다고 보고하고 폐암에서 bcl-2 단백질 발현이 높을수록 예후가 좋다고 보고하고 있어<sup>28</sup> 인체의 암종에 따라 차이가 있다. 따라서 앞으로 bcl-2 유전자의 예후 인자로서의 역할에 대하여는 더 많이 연구되어야 할 것이다.

Ki-67 항체는 세포주기 중 증식 세포의 G1, S, G2기 그리고

M기에 존재하는 핵항원을 인식하는 것으로 암세포의 증식능을 측정하는 데 널리 이용되고 있다. 조기 위암에서의 Ki-67 표지 지수에 관한 연구로 Kanai 등<sup>14</sup>과 Ramires 등<sup>29</sup>은 Ki-67 표지 지수와 림프절 전이와는 유의한 관계가 없다고 보고하였다. Igarashi 등<sup>30</sup>의 보고에 의하면 진행 위암이 조기 위암에서보다 Ki-67 표지지수가 유의하게 높았으나, 림프절 전이 유무와 Ki-67 표지지수 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 본 연구에서도 림프절 전이가 있는 경우 Ki-67 표지지수가 더 높은 경향이었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 그러나 Kakeji 등<sup>18</sup>은 진행 위암에서 Ki-67 표지지수는 종양의 크기, 침윤 깊이, 조직학적 유형과 관계없이 림프절 전이를 예측할 수 있는 유용한 표지자라고 주장하였다. 이러한 차이는 연구 대상의 암 병기 차이에 의한 것으로 생각한다.

한편 위암에서 p53과 Ki-67 표지지수의 상관관계에 관한 연구에 의하면 Kakeji 등<sup>13</sup>과 Sasaki 등<sup>19</sup>은 p53 단백 발현이 높을수록 Ki-67 표지지수가 높았다고 보고하였다. 본 연구에서도 p53 단백 발현과 Ki-67 표지지수 사이에 양의 상관관계가 있었고, 통계적으로 p53 단백 발현이 있는 경우 Ki-67 표지지수가 유의하게 높았다( $p < 0.05$ ). 이러한 사실은 조기 위암에서 p53 유전자의 돌연변이가 종양 세포의 증식을 일으키는 데 관여할 것임을 보여 준다. Kaklamanis 등<sup>8</sup>의 연구에 의하면 대장암에서 bcl-2 단백 발현이 있고 p53 단백 발현이 없는 군이 종양의 침습성이 낮고 림프절 전이가 낮았다. 본 연구에서는 bcl-2 단백 발현과 p53 단백 발현 사이에 상관 관계는 없었다.

결론적으로 조기 위암에서 림프관 침범은 림프절 전이를 예측하는 중요한 인자로 생각되며, p53 단백, bcl-2 단백 및 Ki-67 표지지수는 림프절 전이를 예측하는 유용한 표지자는 아니었다. 앞으로 위암의 생물학적 행동에 영향을 주는 다른 여러 인자들에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

### 참고문헌

1. Suh CI, Suh KA, Park SH, Chang HJ, Ko JW, Ahn DH. Annual report of the central cancer registry in Korea-1998 (based on registered data from 124 hospitals). *J Korean Cancer Assoc* 2000; 32: 827-34.
2. Park SM, Kim HR, Min YI, Park SM, Yu ES. Lymph node metastasis in early gastric cancer. *Korean J Gastroenterol* 1994; 26: 56-62.
3. Chung KW, Cho SJ, Yang HK, *et al.* Clinicopathological analysis for recurrence after surgery for early gastric cancer. *J Korean Cancer Assoc* 2000; 32: 312-20.
4. Maehara Y, Okuyama T, Oshiro T, *et al.* Early carcinoma of the stomach. *Surg Gynecol Obstet* 1993; 177: 593-7.
5. Maruyama K, Gunvén P, Okabayashi K, Sasako M, Kinoshita T. Lymph node metastases of gastric cancer. General pattern in 1931

- patients. *Ann Surg* 1989; 210: 596-602.
6. Ohta H, Noguchi Y, Takagi K, Nishi M, Kajitani T, Kato Y. Early gastric carcinoma with special reference to macroscopic classification. *Cancer* 1987; 60: 1099-106.
7. Koshida Y, Saegusa M, Okayasu I. Apoptosis, cell proliferation and expression of Bcl-2 and Bax in gastric carcinomas: immunohistochemical and clinicopathological study. *Br J Cancer* 1997; 75: 367-73.
8. Kaklamanis L, Savage A, Motensen N, *et al.* Early expression of bcl-2 protein in the adenoma-carcinoma sequence of colorectal neoplasia. *J Pathol* 1996; 179: 10-4.
9. Kyokane K, Ito M, Sato Y, Ina K, Ando T, Kusugami K. Expression of bcl-2 and p53 correlates with the morphology of gastric neoplasia. *J Pathol* 1998; 184: 382-9.
10. Brito MJ, Williams GT, Thompson H, Filipe MI. Expression of p53 in early (T1) gastric carcinoma and precancerous adjacent mucosa. *Gut* 1994; 35: 1697-700.
11. Choi JH, Choi WH. Immunohistochemical study on the expression of Bcl-2 and p53 protein in gastric adenocarcinoma. *Korean J Pathol* 1997; 31: 1282-90.
12. Martin HM, Isabel Filipe M, Morris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1992; 50: 859-62.
13. Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S, *et al.* Gastric cancer with p53 overexpression has high potential for metastasising to lymph nodes. *Br J Cancer* 1993; 67: 589-93.
14. Kanai T, Konno H, Maruyama K, *et al.* p53 overexpression and proliferative activity do not correlate with lymph node metastasis in early gastric cancer. *Eur Surg Res* 1997; 29: 35-41.
15. Tsujimoto Y, Croce CM. Analysis of the structure, transcripts, and protein products of bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 5214-8.
16. Lu QL, Abel P, Foster CS, Lalani EN. bcl-2: role in epithelial differentiation and oncogenesis. *Hum Pathol* 1996; 27: 102-10.
17. Brown DC, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology* 1990; 17: 489-503.
18. Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S, Haraguchi M, Maehara Y, Sugimachi K. Predictive value of Ki-67 and argyrophilic nucleolar organizer region staining for lymph node metastasis in gastric cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 3503-6.
19. Sasaki O, Kido K, Nagahama SC. DNA ploidy, Ki-67 and p53 as indicators of lymph node metastasis in early gastric carcinoma. *Analyt Quant Cytol Histol* 1999; 21: 85-8.
20. Schlemper RJ, Itabashi M, Kato Y, *et al.* Differences in diagnostic criteria for gastric carcinoma between Japanese and western pathologists. *Lancet* 1997; 349: 1725-9.

21. Kim SY, Hwang YH, Choi KP. Clinical study of early gastric cancer. *J Korean Surg Soc* 1995; 49: 172-82.
22. Maehara Y, Orita H, Okuyama T, *et al.* Predictors of lymph node metastasis in early gastric cancer. *Br J Surg* 1992; 79: 245-7.
23. Kodama Y, Inokuchi K, Soejima K, Matsusaka T, Okamura T. Growth patterns and prognosis in early gastric carcinoma. Superficially spreading and penetrating growth types. *Cancer* 1983; 51: 320-6.
24. Fonseca L, Yonemura Y, De Aretxabala X, Yamaguchi A, Miwa K, Miyazaki I. p53 detection as a prognostic factor in early gastric cancer. *Oncology* 1994; 51: 485-90.
25. Hurlimann J, Saraga EP. Expression of p53 protein in gastric carcinomas. Association with histologic type and prognosis. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 1247-53.
26. Lauwers GY, Scott GV, Karpeh MS. Immunohistochemical evaluation of bcl-2 protein expression in gastric adenocarcinomas. *Cancer* 1995; 75: 2209-13.
27. Berardo MD, Elledge RM, de Moor C, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. *bcl-2* and apoptosis in lymph node positive breast carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 1296-302.
28. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, *et al.* *bcl-2* protein in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 690-4.
29. Ramires M, David L, Leitão D, Seixas M, Sansonetty F, Sobrinho-Simões M. Ki67 labelling index in gastric carcinomas. An immunohistochemical study using double staining for the evaluation of the proliferative activity of diffuse-type carcinomas. *J Pathol* 1997; 182: 62-7.
30. Igarashi N, Takahashi M, Ohkubo H, Omata K, Iida R, Fujimoto S. Predictive value of Ki-67, p53 protein and DNA content in the diagnosis of gastric carcinoma. *Cancer* 1999; 86: 1449-54.